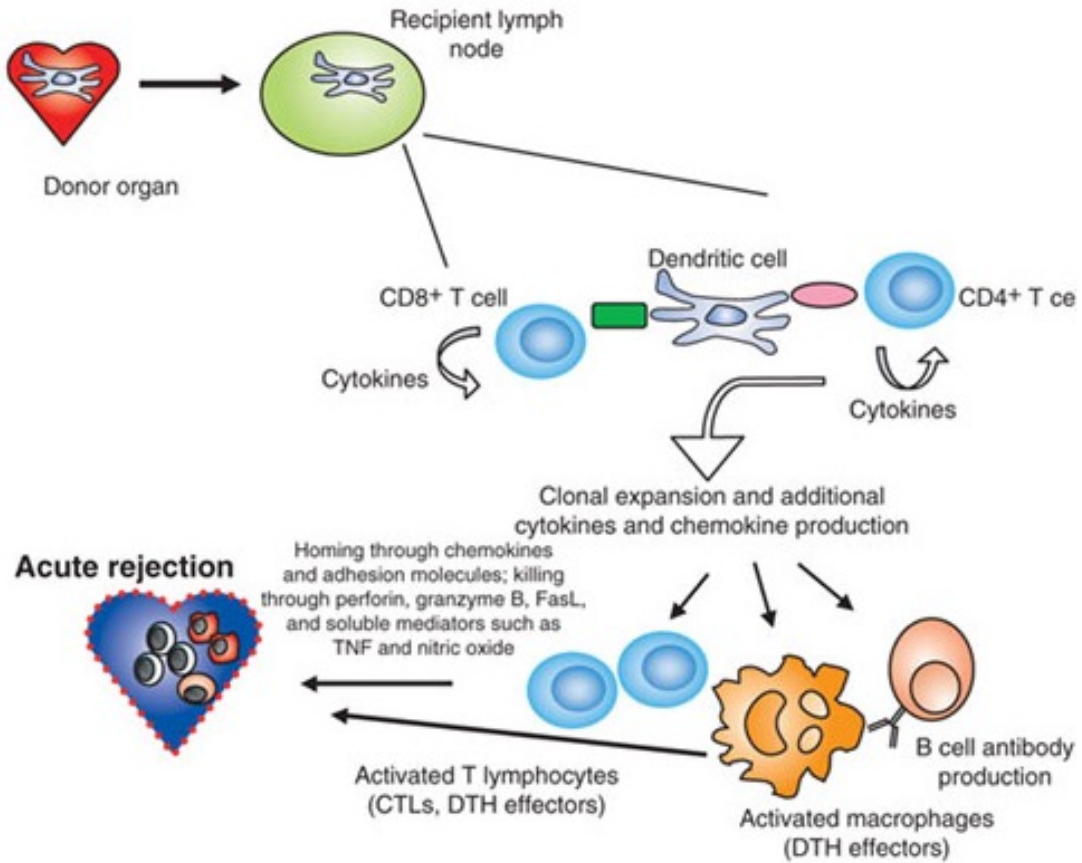
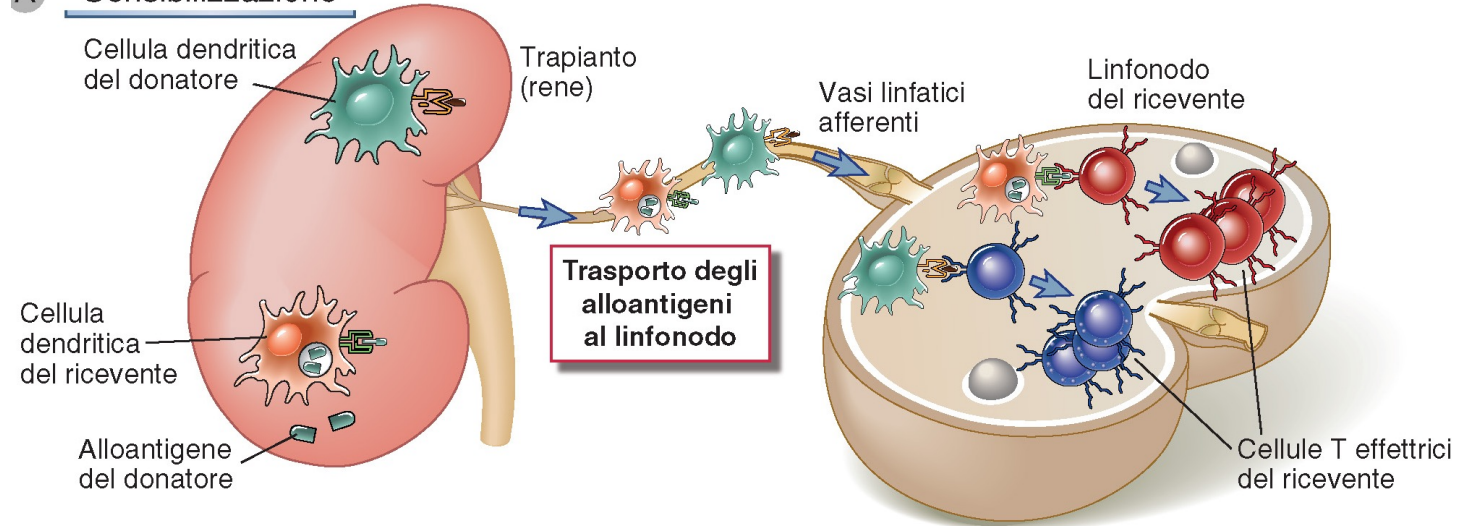


# Il rigetto del trapianto



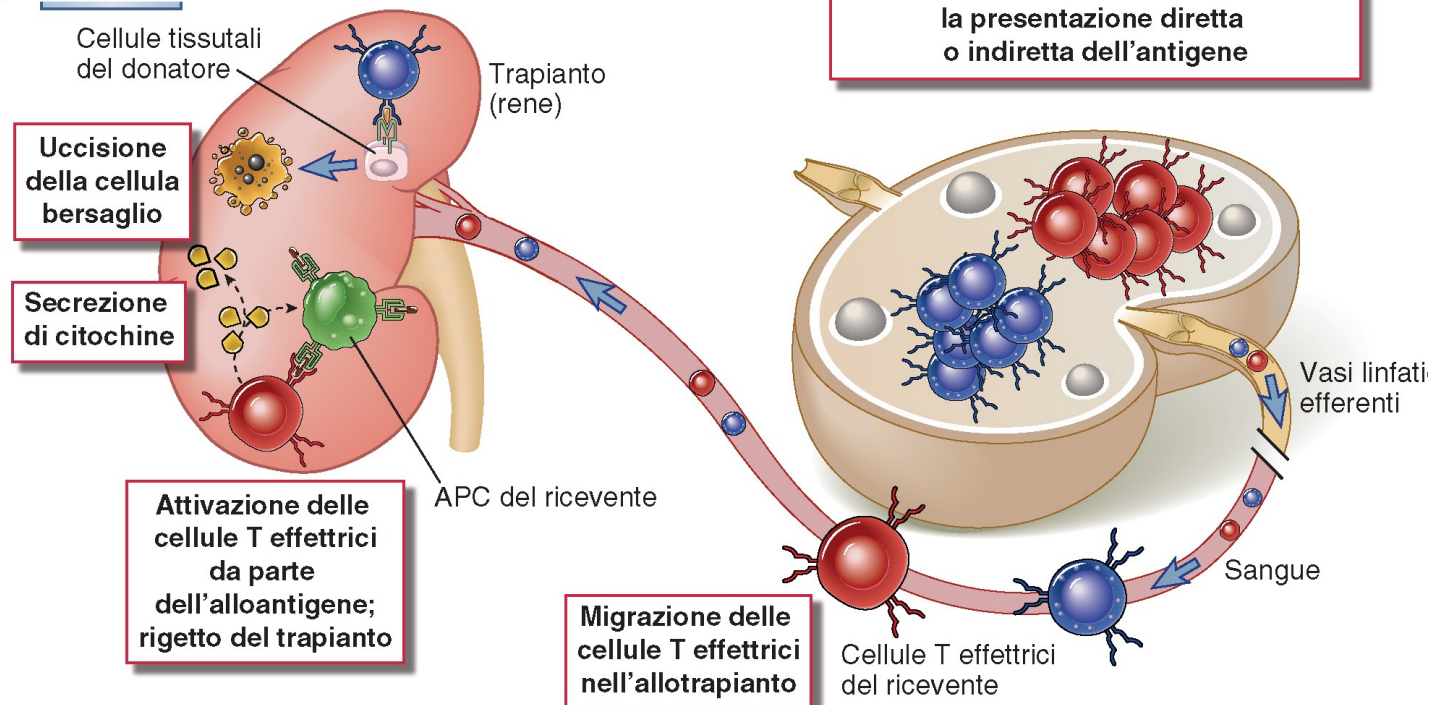
In seguito all'attivazione e al differenziamento dei linfociti T alloreattivi nei linfonodi mediante presentazione diretta o indiretta degli alloantigeni da parte delle cellule dendritiche, i linfociti T migrano nell'organo trapiantato dove svolgono le loro azioni effettrici.

## A Sensibilizzazione

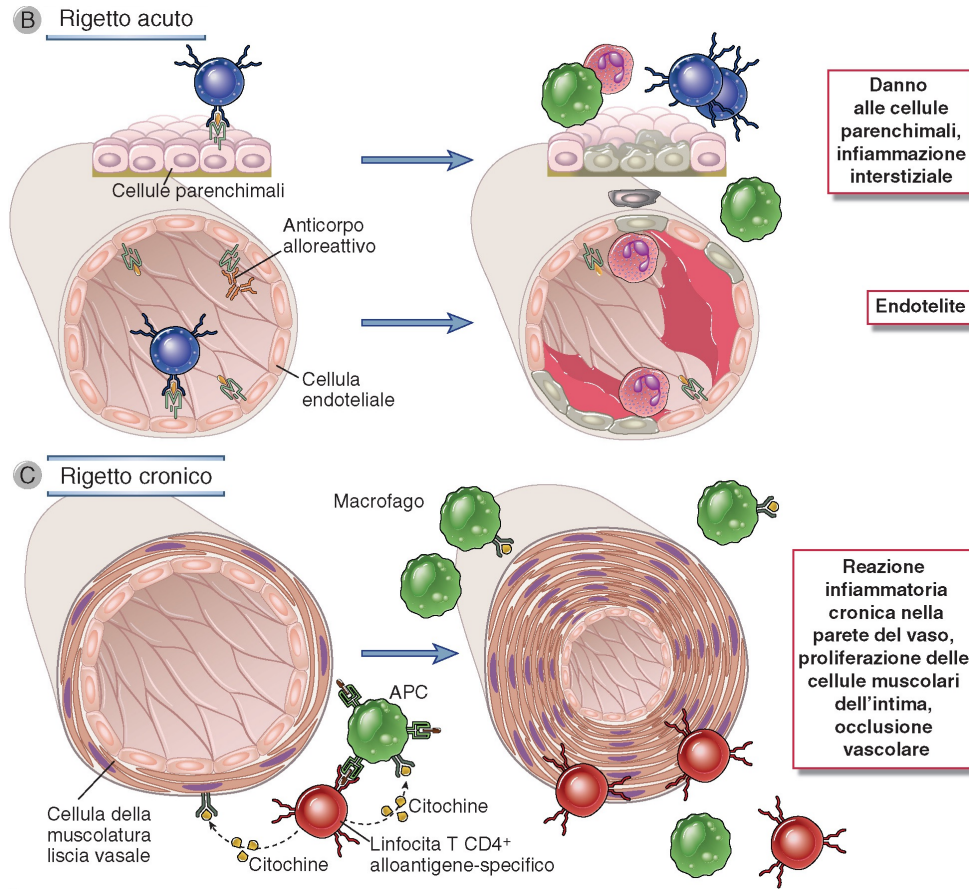


**Attivazione delle cellule T, generazione delle cellule T effettrici mediante la presentazione diretta o indiretta dell'antigene**

## B Rigetto



# Meccanismi del rigetto del trapianto mediato dai linfociti T

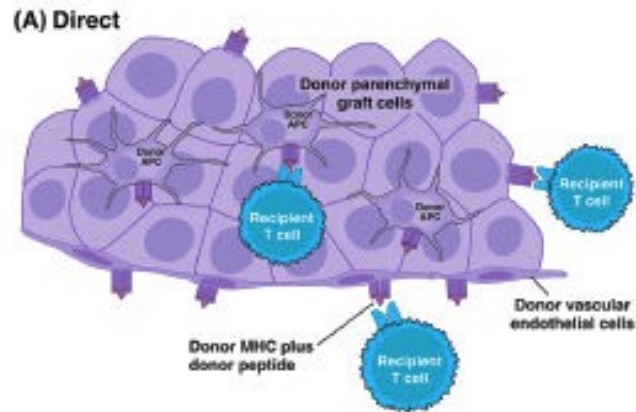


Il rigetto del trapianto mediato dai linfociti T viene classificato in base alle caratteristiche istopatologiche o all'intervallo di tempo che intercorre fra il trapianto e il rigetto.

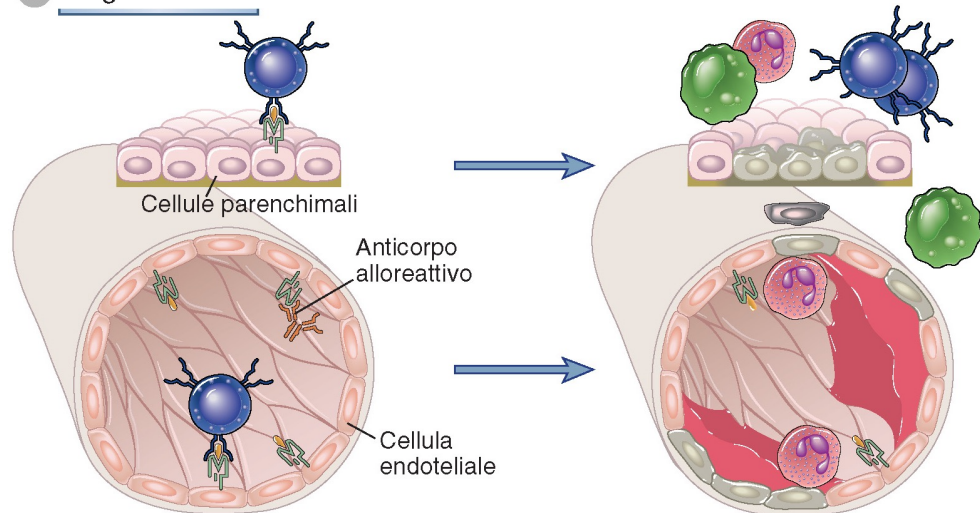
**Il rigetto acuto** si manifesta generalmente non prima di una settimana dal trapianto ed è la manifestazione di un processo di danno vascolare e parenchimale. Questo rigetto è caratterizzato da infiltrazione leucocitaria del trapianto.

**Il rigetto cronico** è caratterizzato dall'occlusione delle arterie come conseguenza della proliferazione delle cellule muscolari lisce vasali. Questo rigetto si manifesta nei 6-12 mesi successivi al trapianto.

# Meccanismi cellulari del rigetto acuto: ruolo dei linfociti T CD8+ attivati per via diretta



## B Rigetto acuto



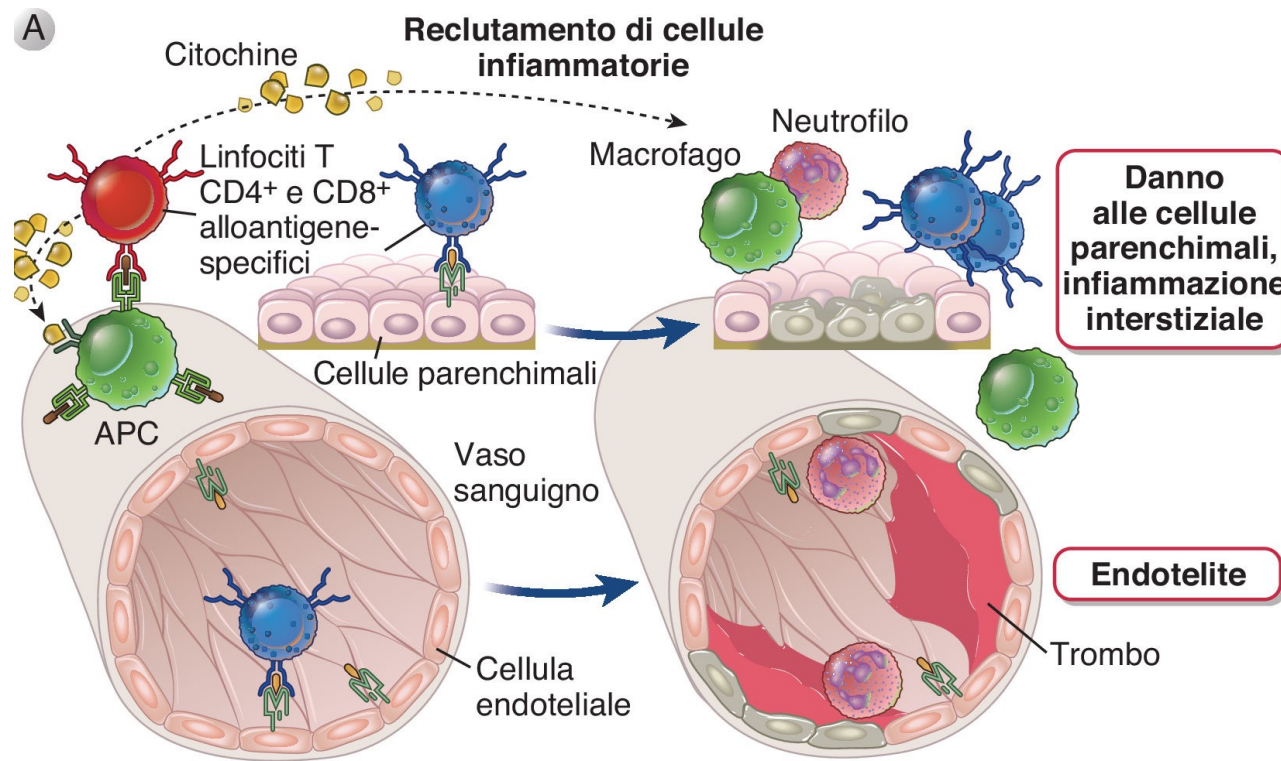
Danno alle cellule parenchimali, infiammazione interstiziale

Endotelite

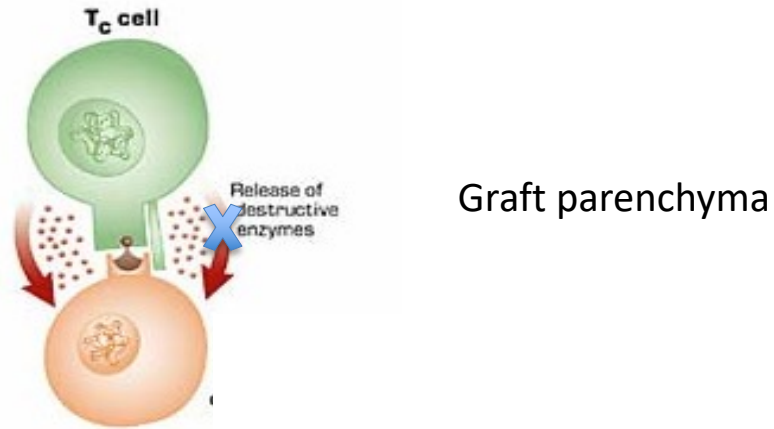
I linfociti T CD8+ alloreattivi che riconoscono in maniera diretta molecole MHC allogeniche svolgono un ruolo primario nel rigetto del trapianto acuto. I linfociti T CD8+ lisano direttamente le cellule endoteliali e parenchimali dell'organo trapiantato. La lisi delle cellule endoteliali si manifesta come endotelite e infiammazione perivascolare.

L'infiltrato cellulare che caratterizza questo tipo di rigetto è arricchito in linfociti T CD8+.

L'eliminazione delle cellule del trapianto da parte dei linfociti T CD8+ avviene attraverso il rilascio dei mediatori di citotossicità come le perforine o FasL e secrezione di IFN- $\gamma$

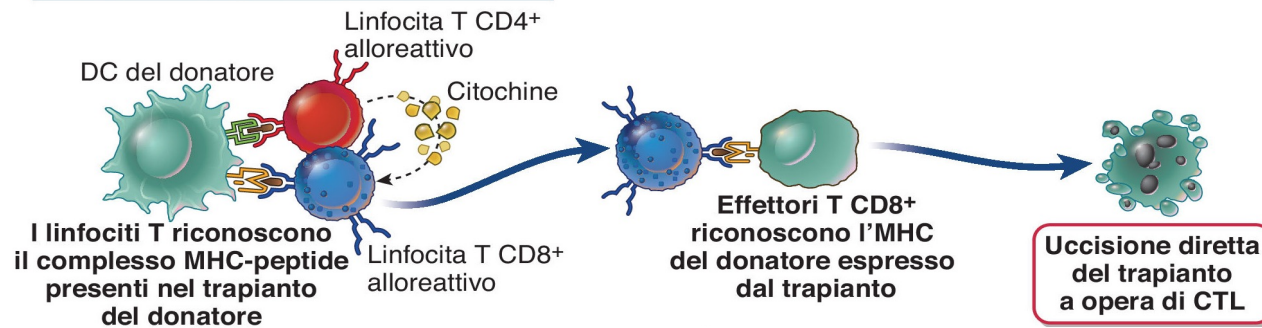


# Ruolo dei linfociti T CD8+ attivati per via indiretta nel rigetto acuto del trapianto

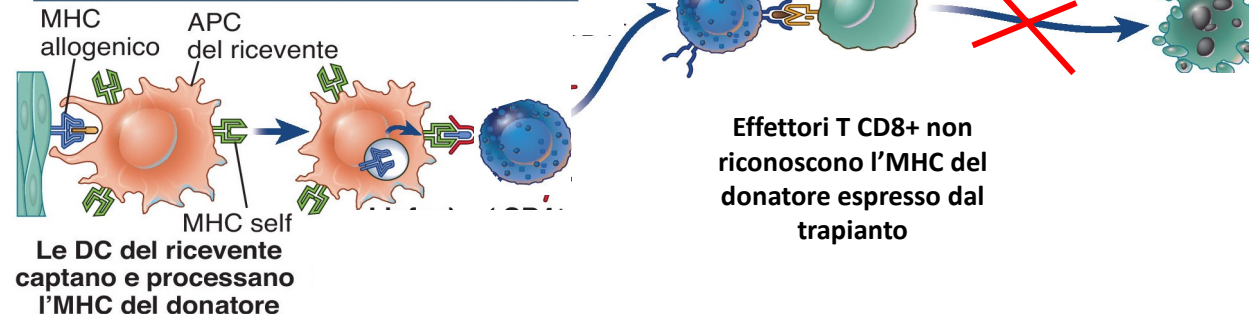


I linfociti T CD8+ alloreattivi che riconoscono gli alloantigeni per via indiretta non saranno in grado di lisare le cellule dell'organo trapiantato nel caso in cui il donatore e ricevente esprimano alleli HLA di classe I diversi.

## A Riconoscimento diretto dell'alloantigene

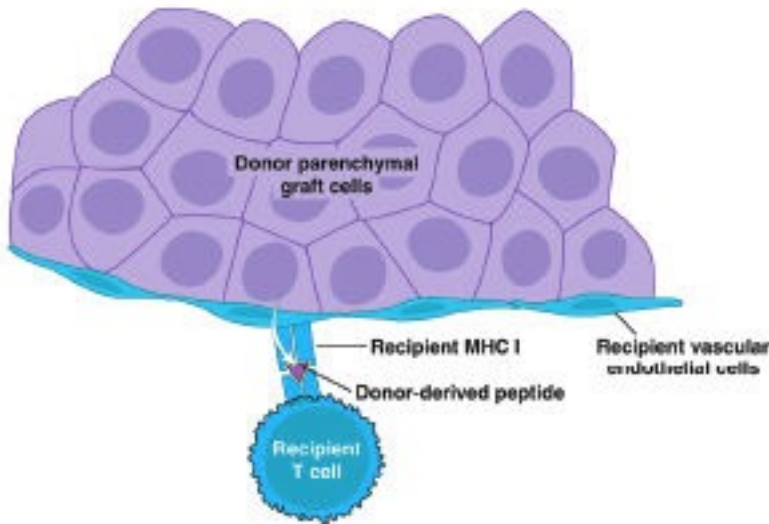


## B Riconoscimento indiretto dell'alloantigene



## Ruolo dei linfociti T CD8+ indirettamente attivati nel rigetto acuto del trapianto

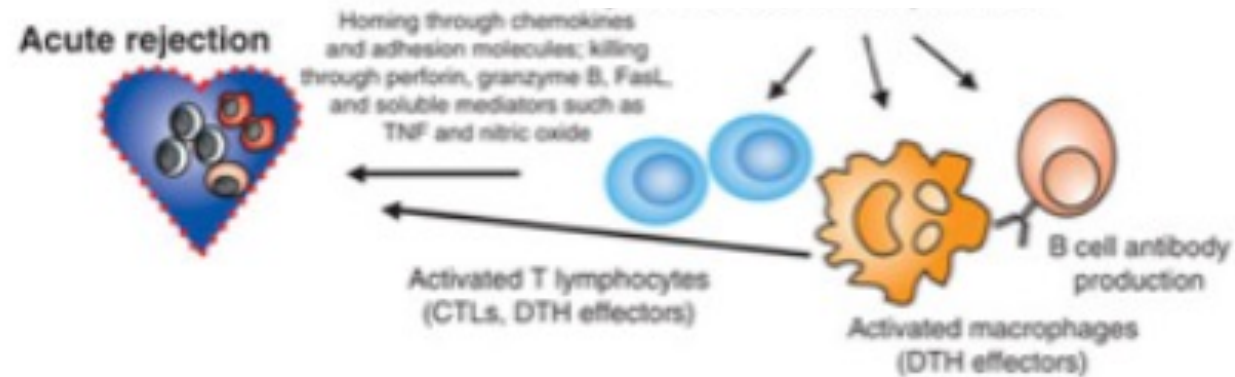
(B) Indirect (endothelial target)



Nel modello del trapianto di pelle è possibile che cellule endoteliali dei vasi che irrorano il trapianto e derivate dal ricevente siano il bersaglio delle risposte immuni indirette mediate dai linfociti T CD8+. Tali cellule mediano il rigetto lisando le cellule endoteliali dei vasi che irrorano il trapianto.

Nel trapianto di pelle è stato dimostrato che i linfociti T CD8+ attivati per via indiretta causano rigetto del trapianto distruggendo le cellule endoteliali dei vasi che lo irrorano. La distruzione dell'organo trapiantato è causata dal danno ischemico.

# Ruolo dei linfociti T CD4+ nel rigetto acuto del trapianto



Alcuni studi hanno dimostrato che i linfociti T CD4 possono mediare il rigetto acuto del trapianto:

Il trasferimento adottivo di cellule T CD4 alloreattive induce rigetto acuto del trapianto.

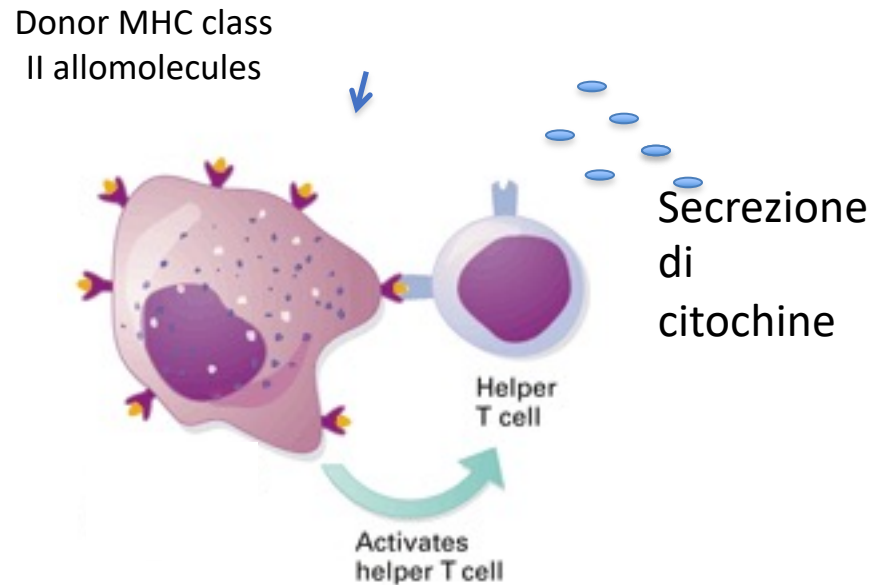
I topi KO dei linfociti T CD8 presentano rigetto acuto del trapianto.

In assenza di anticorpi e cellule T CD8+ i linfociti T CD4+ sono in grado di mediare il rigetto acuto di trapianti di cuore e tale rigetto richiedeva l'espressione delle molecole MHC del donatore. Questo suggeriva un ruolo dei linfociti T CD4+ attivati per via diretta nel mediare il rigetto acuto di trapianto di cuore.

Nel caso del rigetto acuto mediato dai linfociti T CD4+ l'eliminazione delle cellule del trapianto dipende dalla presenza del recettore dell' IFN- $\gamma$ .



## Ruolo dei linfociti T CD4+ nel rigetto acuto del trapianto

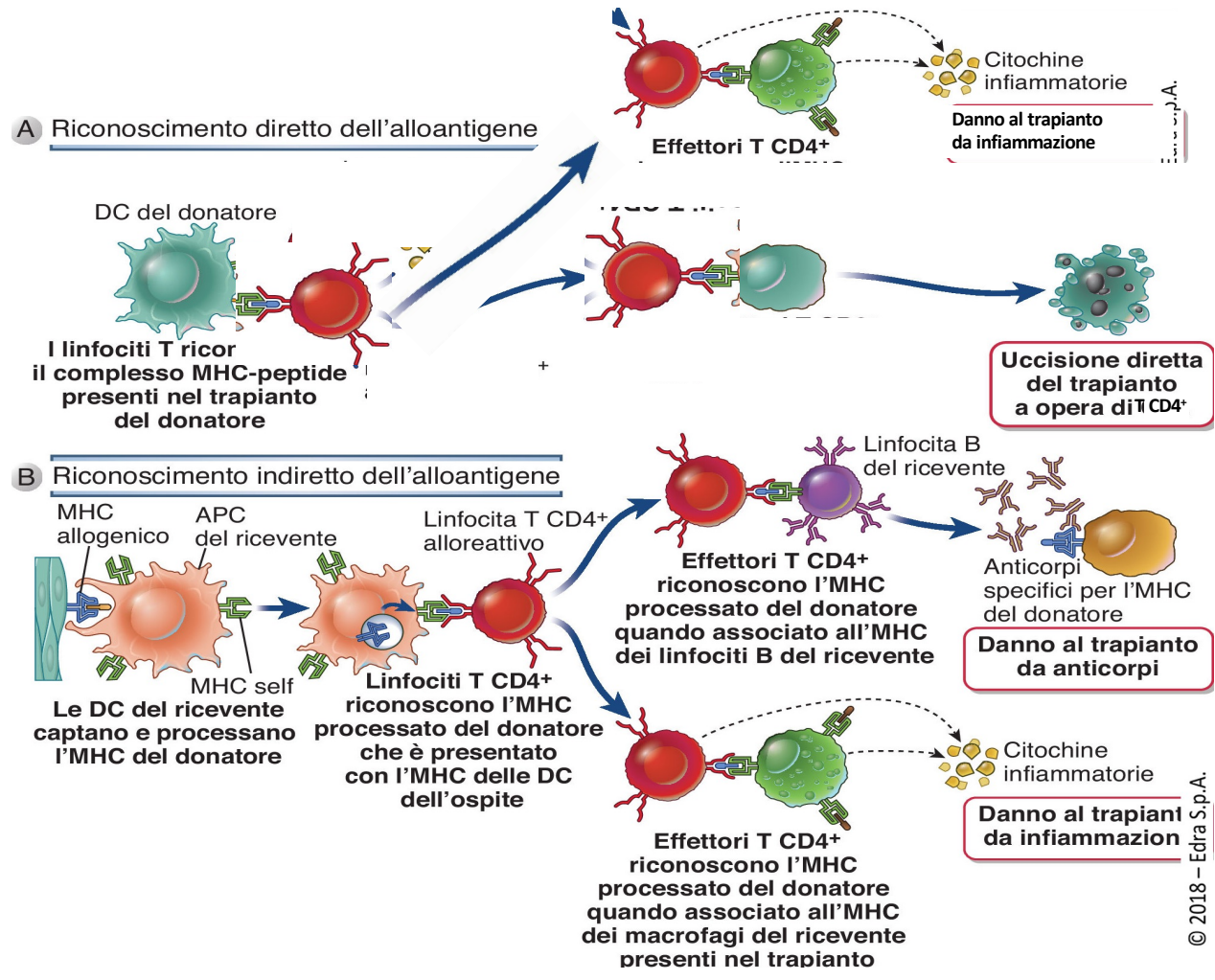


I linfociti T CD4+ non hanno come funzione principale l'attività citolitica. Per esplicare le funzioni effettrici necessitano di riconoscere gli antigeni ristretti dalle molecole MHC di classe II.

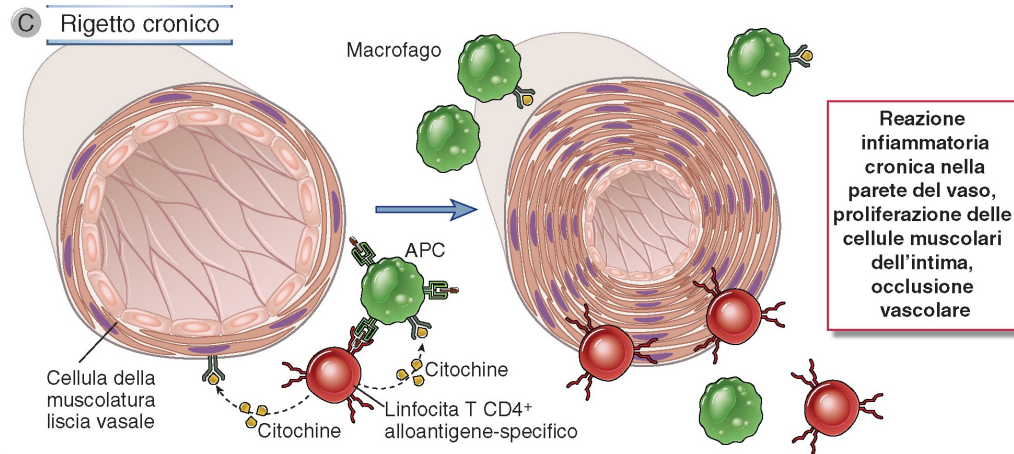
Le molecole MHC di classe II sono espresse costitutivamente dalle cellule dendritiche, e dai macrofagi. Le cellule del parenchima e dell'endotelio dell'organo trapiantato possono diventare potenziali bersagli delle cellule T CD4+ alloreattive attivate per via diretta in seguito alla up-regolazione delle molecole MHC di classe II. Nel rigetto acuto mediato dai linfociti T CD4+ l'eliminazione delle cellule del trapianto dipende dalla presenza di IFN- $\gamma$ , del contatto cellula-cellula e di mediatori di citotossicità come FasL.

E' stato ipotizzato che l'IFN- $\gamma$

- up-regoli l'espressione delle molecole MHC di classe II sul trapianto.
- Eserciti una azione citopatica diretta sul trapianto.



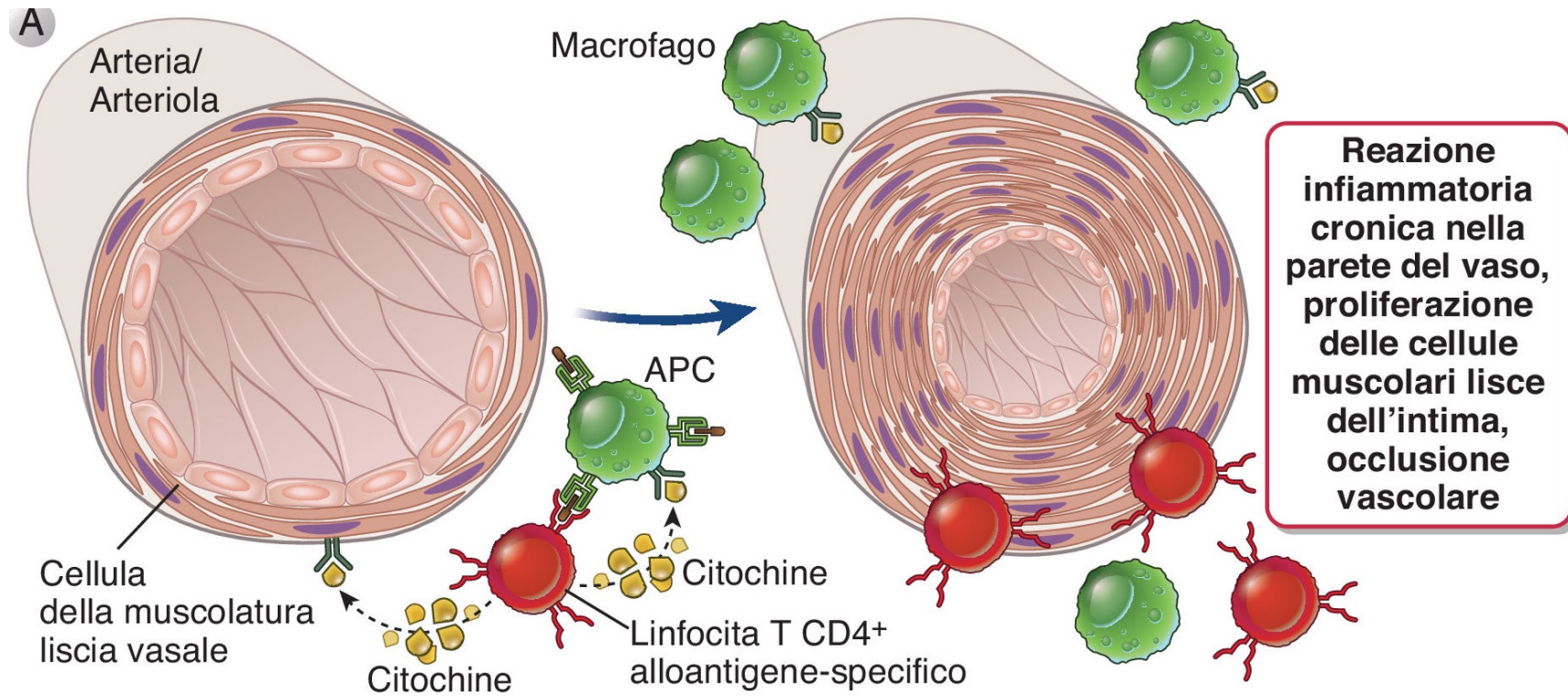
# Meccanismi cellulari del rigetto cronico: ruolo dei linfociti T CD4+



La longevità della via di presentazione diretta e indiretta degli alloantigeni rappresenta probabilmente il fattore critico che determina il contributo di questi due pathway nello sviluppo del rigetto cronico.

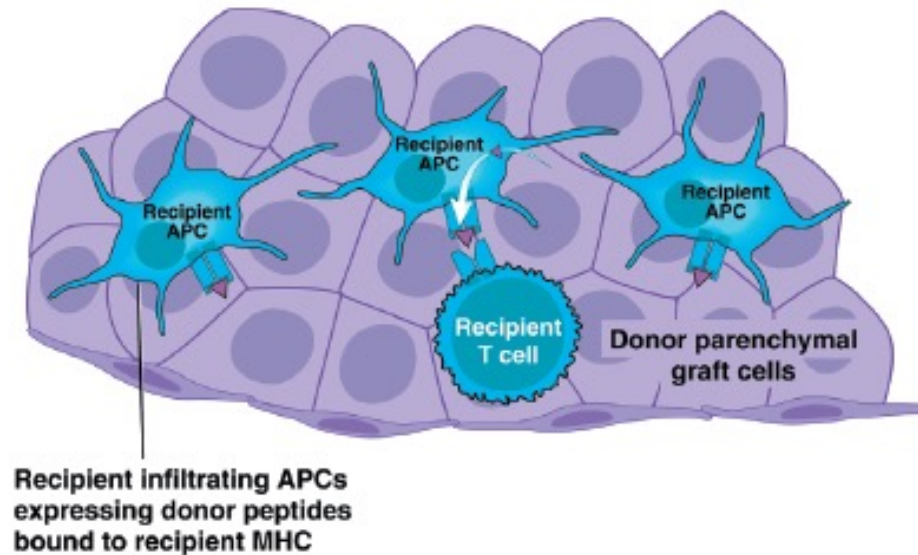
Poiché le cellule dendritiche del donatore sono eliminate in tempi rapidi dopo il trapianto, si ritiene che solo le risposte alloreattive indirette possano avvenire in tempi tardivi dopo il trapianto.

La principale lesione che caratterizza il rigetto cronico del trapianto è la vasculopatia che determina la costrizione dei vasi che irrorano il trapianto. L'occlusione dei vasi è dovuta alla proliferazione delle cellule muscolari lisce dell'intima vasale. Proliferazione dovuta alla produzione di fattori di crescita per le cellule muscolari lisce da parte dei linfociti T. Alla patogenesi delle lesioni contribuisce la reazione DTH mediata dai linfociti T alloreattivi secernenti IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ .



## Ruolo dei linfociti T CD4 attivati per via indiretta nel rigetto cronico del trapianto

### (C) Indirect (intragraft target)



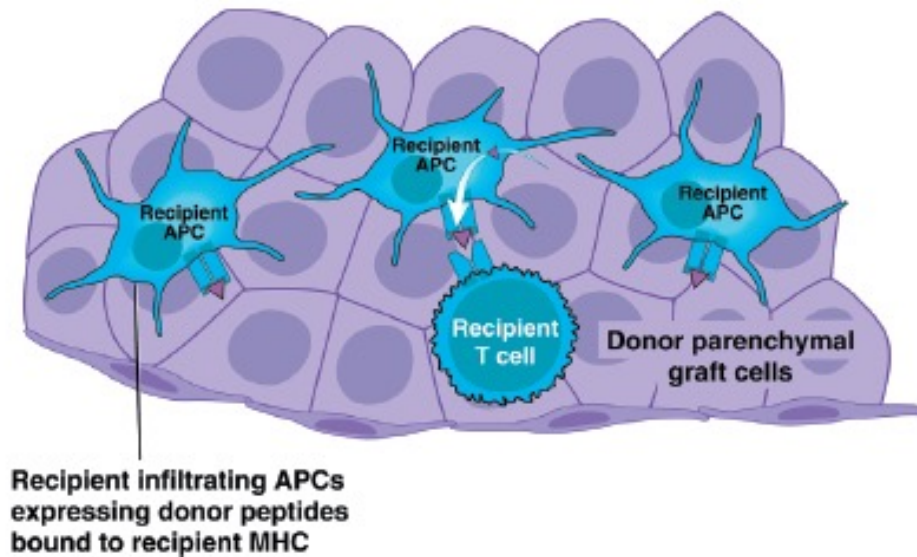
La via indiretta di riconoscimento delle molecole allojeniche sembra avere un ruolo fondamentale nel rigetto cronico del trapianto.

Poiché le cellule dendritiche del donatore dovrebbero essere eliminate dopo il trapianto, si ritiene che il pathway indiretto di presentazione degli allo-antigeni è responsabile del rigetto cronico.

I monociti e i macrofagi del ricevente infiltrano l'organo trapiantato e possono presentare i peptidi del donatore in associazione alle molecole MHC del ricevente alle cellule T del ricevente. Il meccanismo principale di questo rigetto è attraverso la secrezione di citochine da parte dei linfociti T CD4+ in grado di stimolare la proliferazione delle cellule endoteliali e muscolari dei vasi.

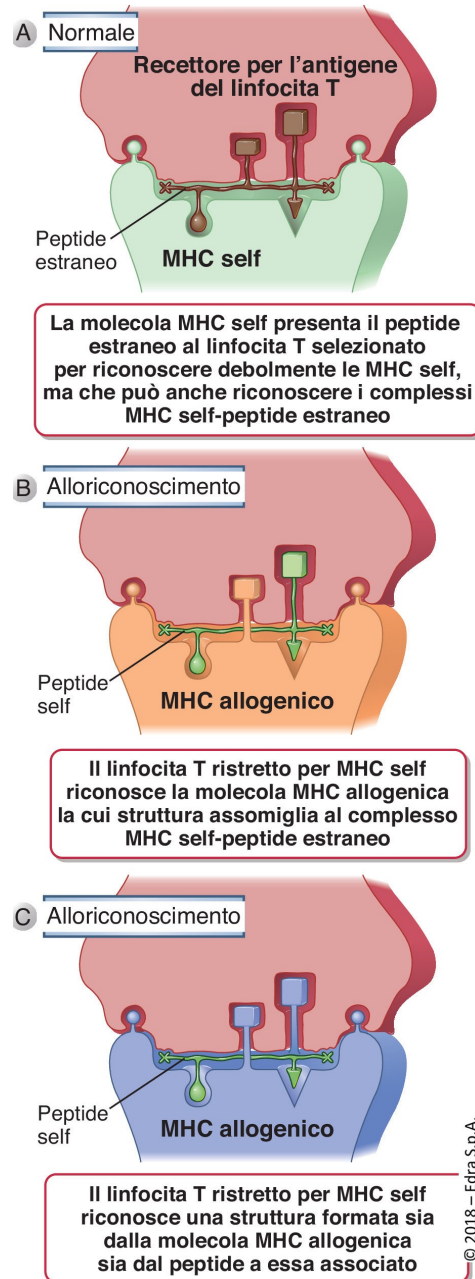
L'occlusione dei vasi limita l'irrorazione dell'organo e il parenchima viene sostituito da tessuto fibroso.

**(C) Indirect (intragraft target)**



I linfociti T CD4+ indirettamente attivati sono in grado di mediare le reazioni DTH (delayed type hypersensitivity) e quindi di attivare i macrofagi favorendo il rilascio di mediatori solubili proinfiammatori quali l'ossido nitrico, TNF- $\alpha$ , specie reattive dell'ossigeno in grado di danneggiare il tessuto.

# Basi molecolari del riconoscimento diretto delle molecole MHC allogeniche



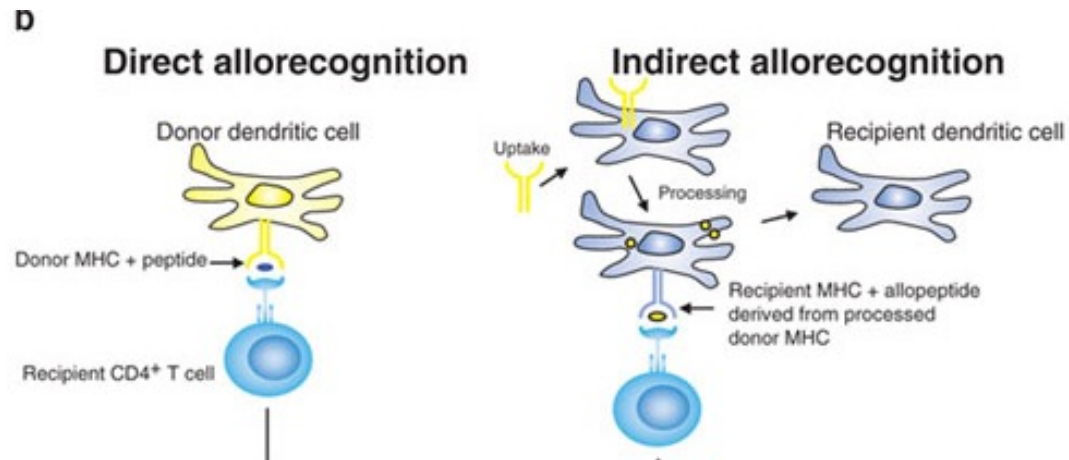
L'analisi cristallografica del complesso TCR con MHC allogenic + peptide ha dimostrato che questa interazione è per lo più identica all'interazione fra TCR con l'MHC autologo + peptide non autologo.

I peptidi legati alle molecole MHC allogeniche possono essere coinvolti nel riconoscimento da parte dei linfociti allorreattivi in modo diverso.

Per certi cloni T è la molecola MHC allogena da sola del complesso MHC + peptide ad essere il bersaglio maggiore dell'alloriconoscimento (high density model)

Per altri cloni è il complesso MHC + peptide ad essere il bersaglio dell'alloriconoscimento (multiple binary complex model).

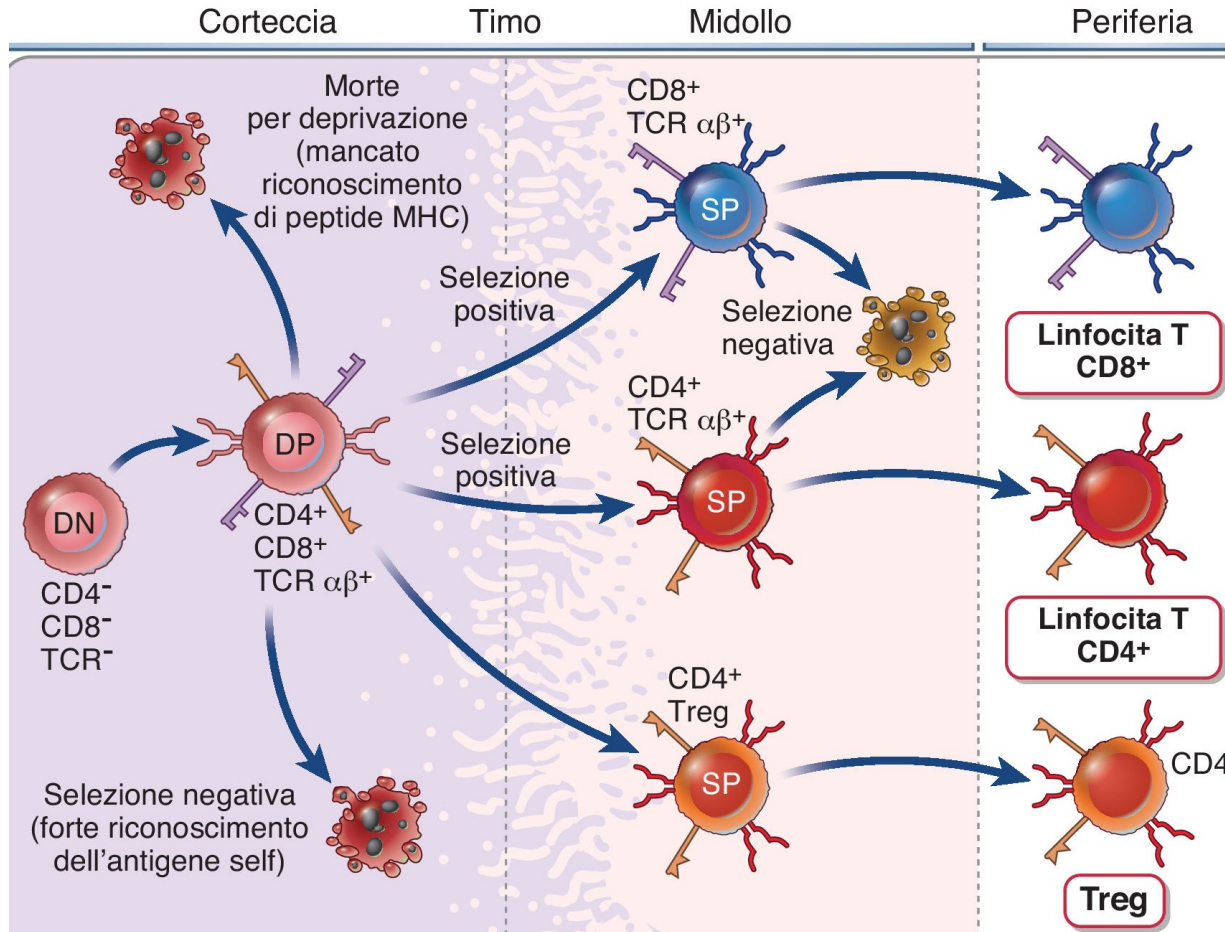
## Riconoscimento diretto



Il riconoscimento diretto dimostra che un linfocita che è stato selezionato per riconoscere gli antigeni estranei associati alle proprie molecole MHC è in grado di riconoscere antigeni tissutali (self e non self) associati a molecole MHC diverse da quelle autologhe. Questo riconoscimento avviene grazie alla natura cross-reattiva del TCR. Cross reattività = capacità di un TCR di riconoscere complessi MHC allogenici associati a peptidi



**I processi di selezione positiva e negativa nel timo permettono lo sviluppo dei linfociti T i cui TCR legano con bassa affinità l'MHC self**

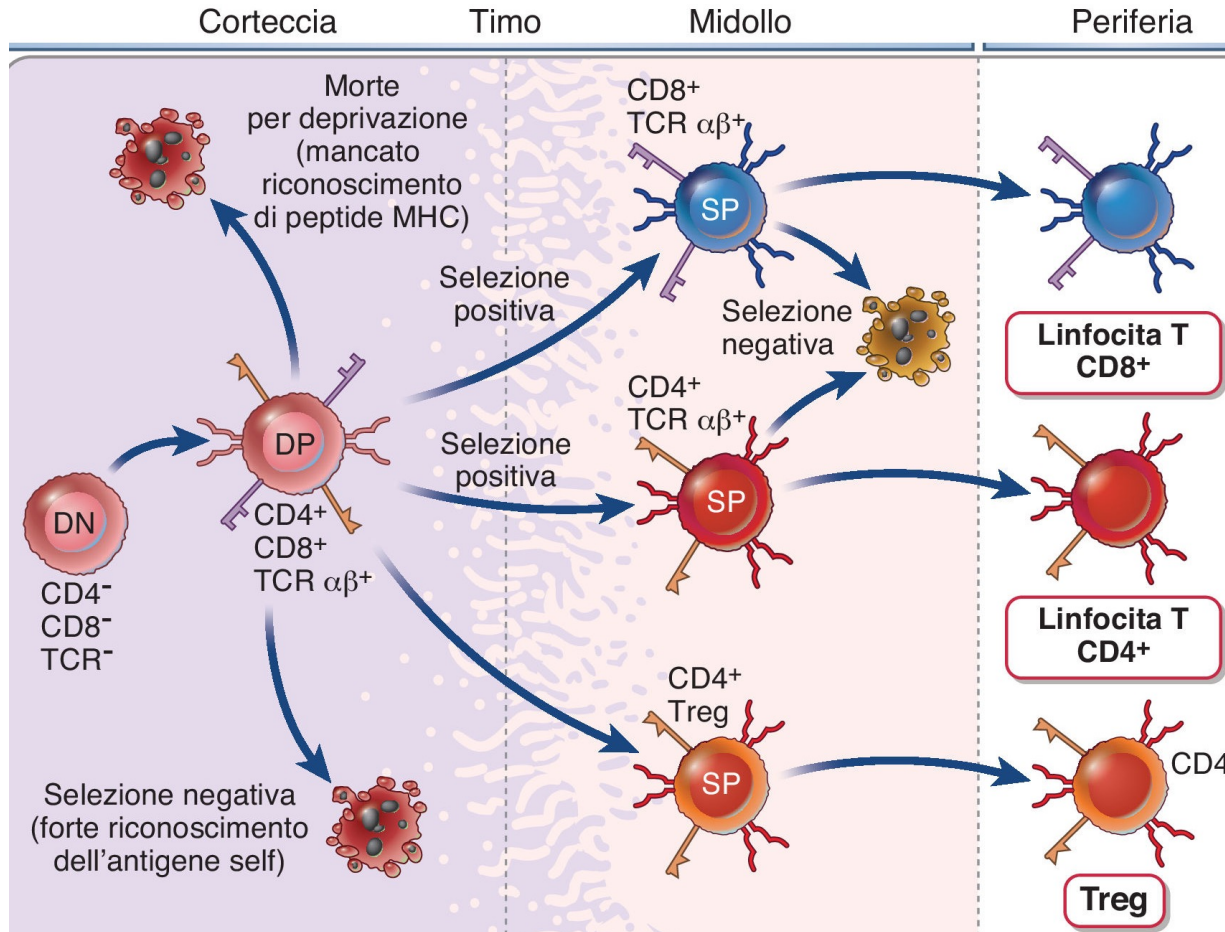


Perché il nostro repertorio T presenta linfociti T alloreattivi?

I timociti doppi positivi CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, TCRα/β<sup>+</sup> vanno incontro a selezione nella zona corticale del timo.

In base alla affinità del riconoscimento del complesso MHC self + peptide espresso dalle cellule epiteliali della corticale timica.

## I processi di selezione positiva e negativa nel timo permettono lo sviluppo dei linfociti T i cui TCR legano con bassa affinità l'MHC self

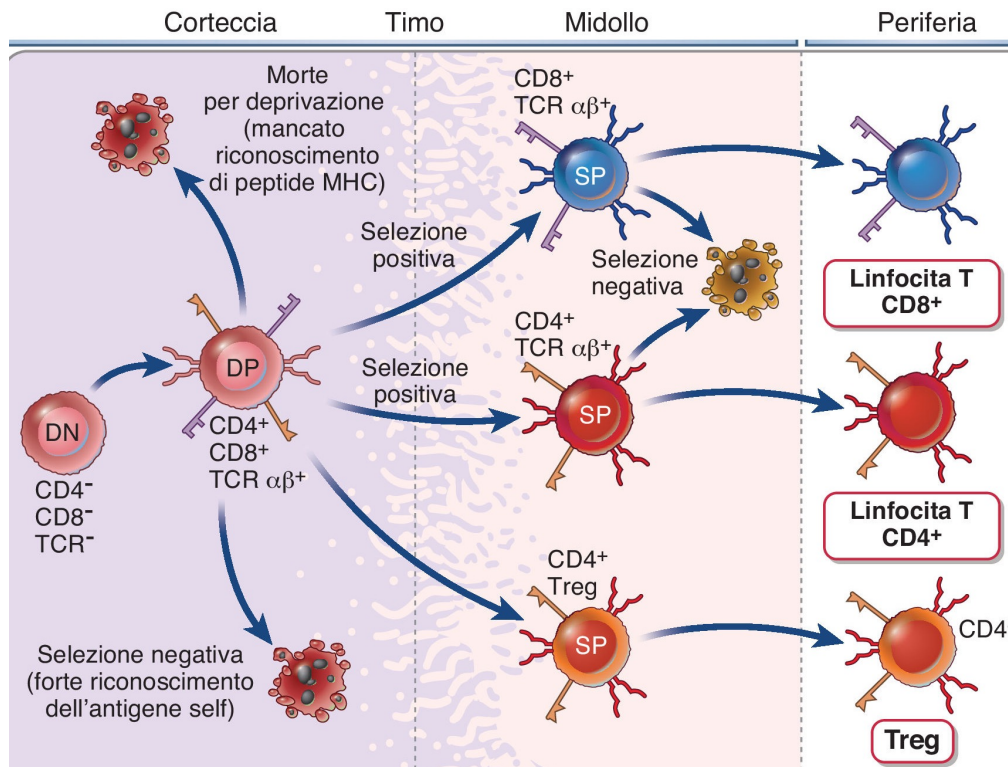


I timociti il cui TCR non riconosce l'MHC+peptide moriranno per deprivazione del segnale;

I timociti il cui TCR riconosce l'MHC+peptide con alta affinità moriranno.

I timociti il cui TCR riconosce l'MHC+peptide con bassa affinità sopravviveranno e proseguiranno la loro maturazione.

## I processi di selezione positiva e negativa nel timo permettono lo sviluppo dei linfociti T i cui TCR legano con bassa affinità l'MHC self

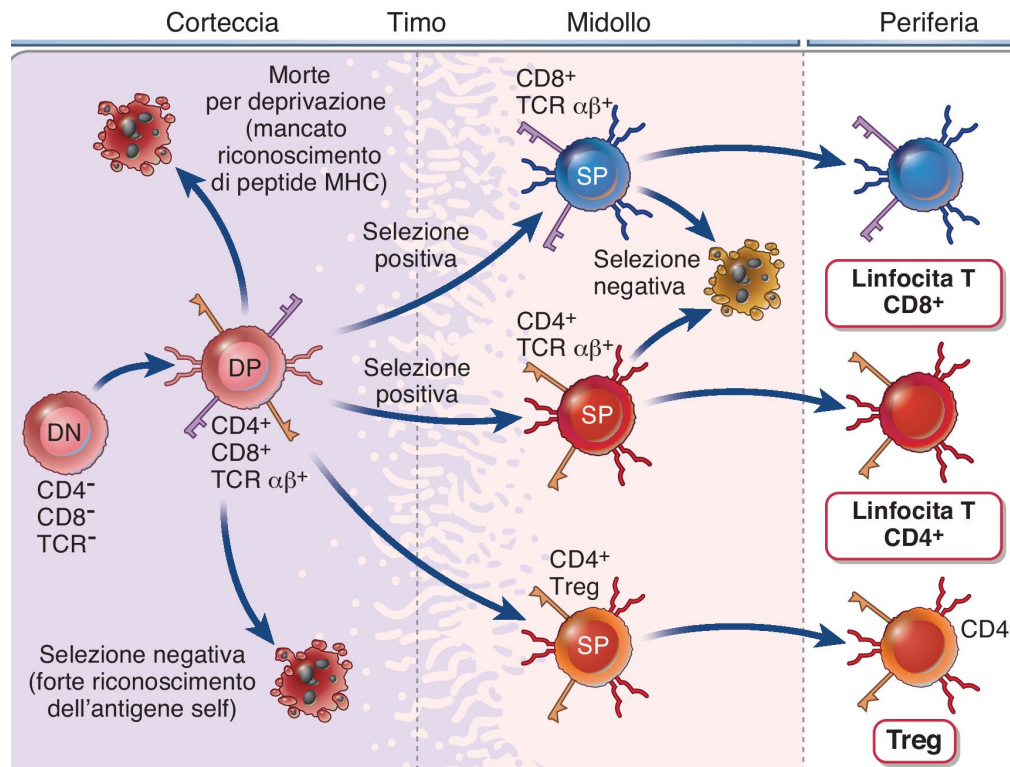


Nella midollare timica i timociti singoli positivi andranno incontro a selezione negativa.

A questo stadio i timociti che riconoscono con alta affinità il complesso MHC+peptide espresso dalle cellule epiteliali, dalle cellule dendritiche o dai macrofagi andranno incontro a morte.

# I processi di selezione positiva e negativa nel timo permettono lo sviluppo dei linfociti T i cui TCR legano con bassa affinità l'MHC self

Perché il nostro repertorio T presenta linfociti T alloreattivi?



- I TCR selezionati per riconoscere il complesso MHC autologo+peptide a bassa affinità hanno la potenzialità di riconoscere MHC-allo con alta affinità.

- I TCR alloreattivi non sono sottoposti a selezione negativa nel timo.

- L'alloreattività del TCR riflette la predisposizione di tale recettore a interagire con le molecole MHC

## Caratteristiche della risposta T alloreattiva

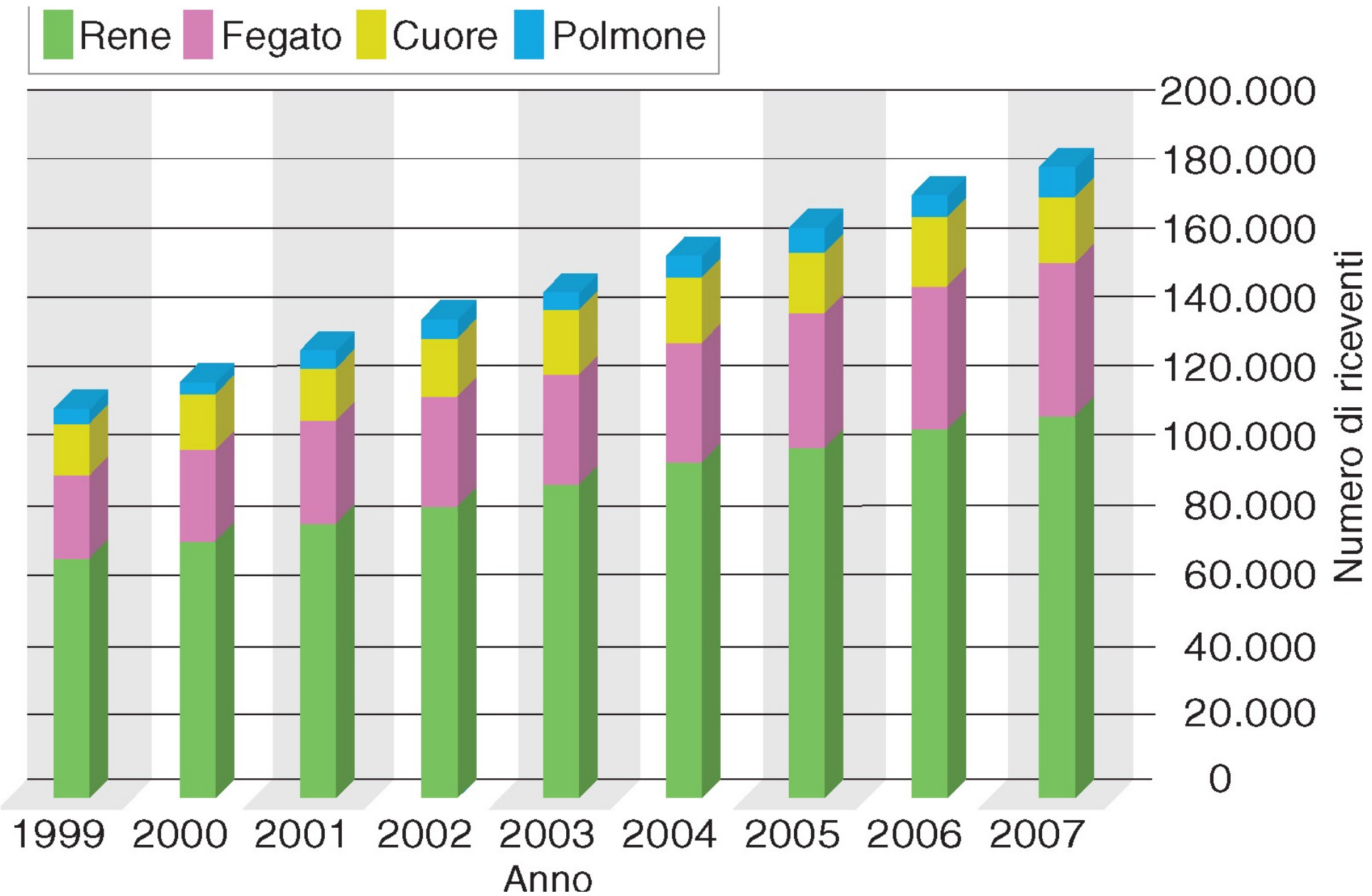
La frequenza di linfociti T specifici per un complesso MHC+peptide microbico  
 $1/10^5$ -  $1/10^6$

frequenza di linfociti T specifici per un complesso allogenico MHC+peptide  
 $1/10^2$ - $1/10^3$

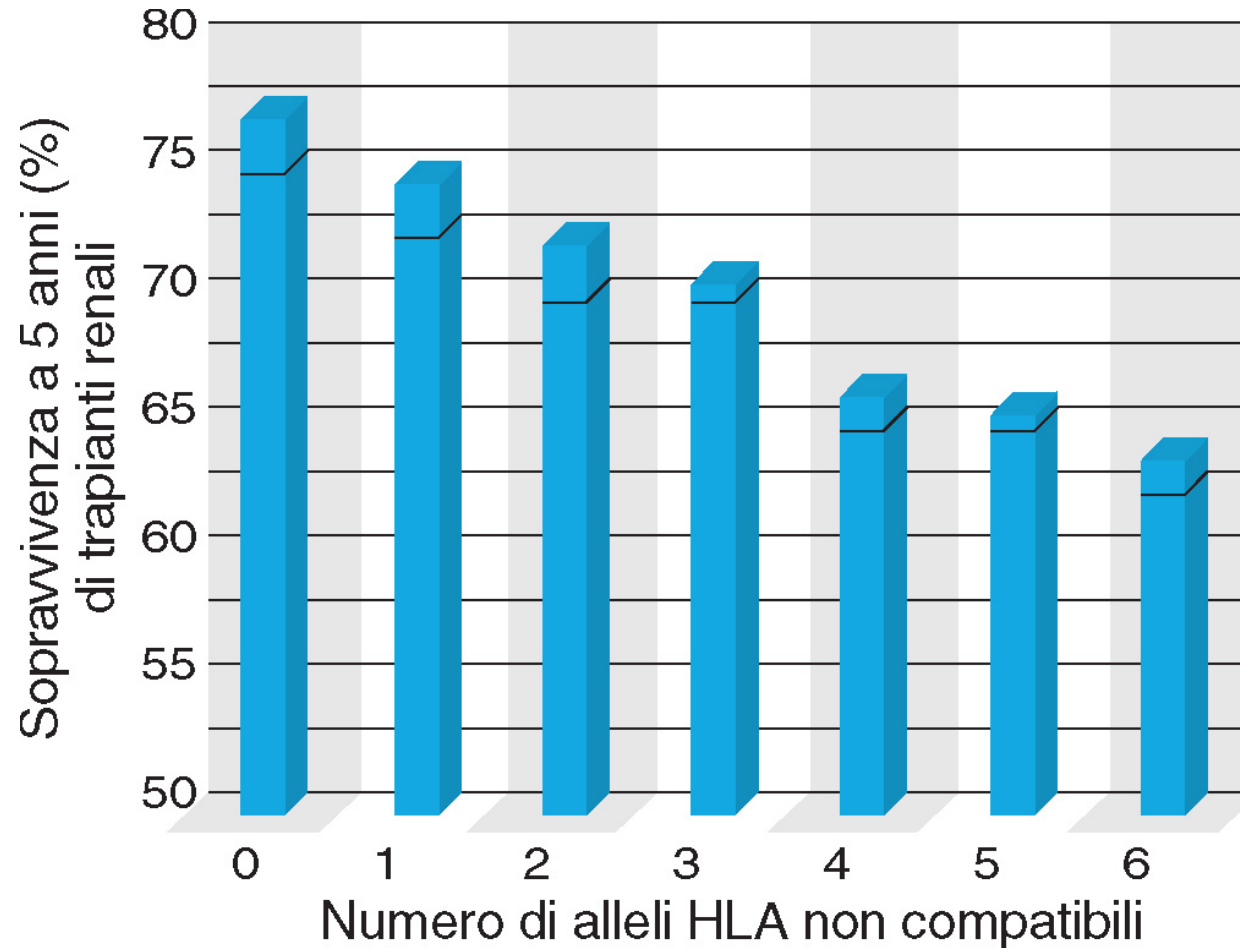
- Alto livello di cross-reattività del TCR. Un TCR può riconoscere molte combinazioni MHC+peptide.
- Molti linfociti T alloreattivi sono linfociti della memoria generati nelle risposte verso agenti infettivi incontrati dall'organismo.
- I linfociti T alloreattivi sono arricchiti in cellule T che esprimono due catene alfa del TCR aumentandone la cross-reattività.
- I linfociti T alloreattivi non sono selezionati negativamente nel timo.

## La terapia immunosoppressiva

Il primo trapianto di reni è stato effettuato con successo a Boston nel 1954 fra due gemelli. Da allora avanzamenti nella tipizzazione HLA e nella terapia immunosoppressiva hanno reso possibile il trapianto di rene a numerosi individui. Il trapianto di rene è stato il trapianto pioniere nella clinica per due ragioni principali. 1) I pazienti con danni ai reni possono sopravvivere grazie alla dialisi e anche in caso di insuccesso del trapianto 2) la possibilità di vivere con un solo rene permette il trapianto fra individui della stessa famiglia.



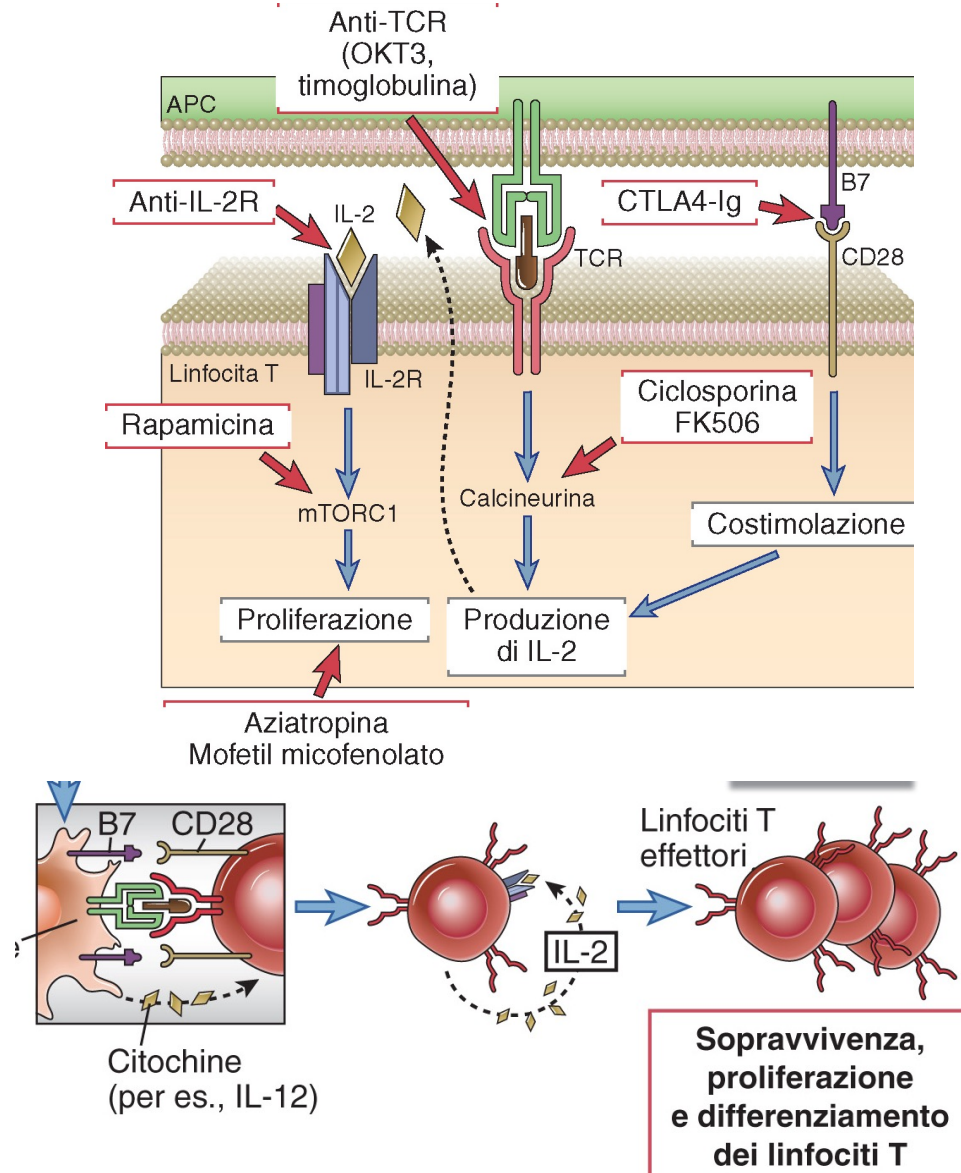
**Più è alto il numero di alleli HLA in comune fra il donatore e il ricevente, maggiore è l'attecchimento del trapianto e la sopravvivenza del ricevente.**



L'analisi dell'esito del trapianto di rene in membri della famiglia HLA identici o non ha permesso di dimostrare che maggiore è il numero di alleli in comune fra il donatore e il ricevente maggiore è la probabilità di attecchimento del trapianto. L'esperienza clinica ha dimostrato che fra tutti i loci di classe I e II il grado di compatibilità per l'HLA-A, -B e -DR è importante per predire l'esito del trapianto.



# Immunosoppressione nel trattamento del rigetto del trapianto



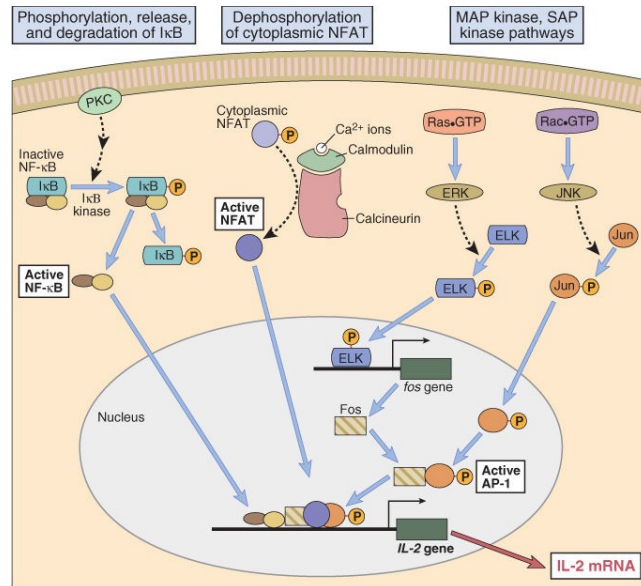
Il trapianto allogenico è reso possibile dall'uso di farmaci immunosoppressivi. La limitatezza della disponibilità di organi e la diversità delle molecole HLA fa sì che la maggior parte dei pazienti riceve trapianti che differiscono per uno o più loci HLA.

Per sopprimere le risposte alloreattive che potrebbero causare rigetto del trapianto vengono utilizzati farmaci immunosoppressivi.

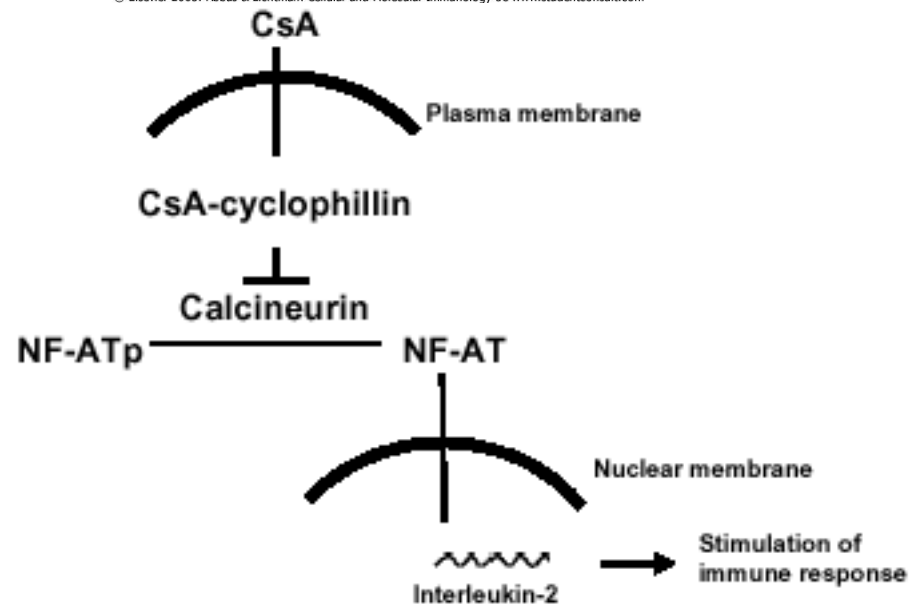
Questi farmaci possono essere di tre tipi:

- 1) Prodotti microbici che inibiscono la via di segnalazione dei linfociti T attivati
- 2) Farmaci citotossici (interferiscono con la replicazione del DNA, uccidendo i linfociti).
- 3) Corticosteroidi (anti-infiammatori)

# Ciclosporina



© Elsevier 2005. Abbas & Lichtman: Cellular and Molecular Immunology 5e www.studentconsult.com

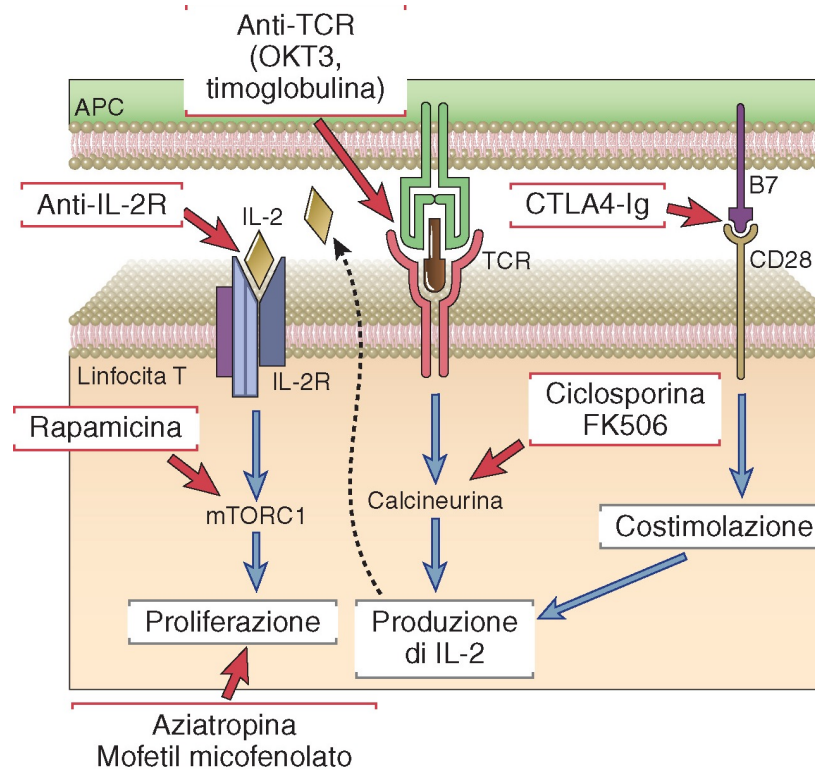


## Azione della ciclosporina

La ciclosporina è un peptide ciclico di derivazione fungina che blocca la trascrizione dei geni per l'IL-2.

**La ciclosporina (CsA)** si lega con alta affinità alla ciclofilina e questo complesso si lega alla calcineurina. La calcineurina è una fosfatasi Calcio-calmodulina dipendente che defosforila il fattore trascrizionale NF-AT. NF-AT nei linfociti T attivati è necessario per la trascrizione dell'IL-2.

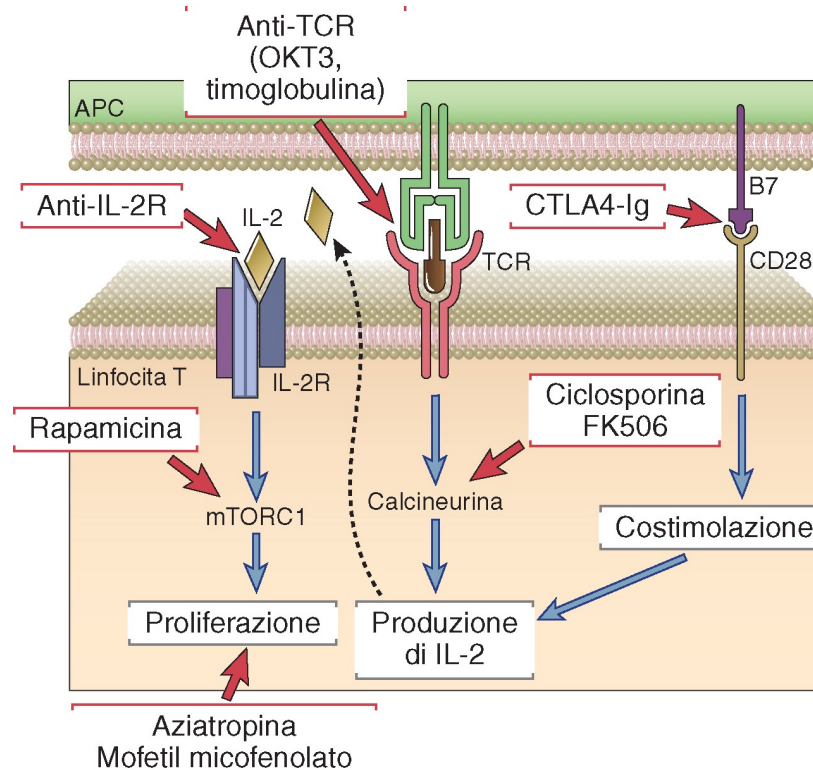
**FK-506 (Tacrolimus)**, metabolita fungino lega la proteina FK-506BP bloccando la calcineurina.



**Rapamicina**= composto naturale che inibisce la proliferazione dei linfociti T. Si lega alla molecola FK-506BP ma non inibisce la calcineurina bensì la molecola mTOR. La rapamicina inibisce la trasduzione del segnale indotta dall'IL-2 bloccando i linfociti nella fase G1-S del ciclo cellulare

**Mofetil micofenolato**= farmaco sintetico che uccide le cellule proliferanti. Tale composto è metabolizzato a acido micofenolico che blocca una isoforma specificamente espressa dai linfociti T della deidrogenasi dell'inosina monofosfato (sintesi dei nucleotidi che contengono la guanina).

## Anticorpi monoclonali diretti verso il CD3 o il CD25.

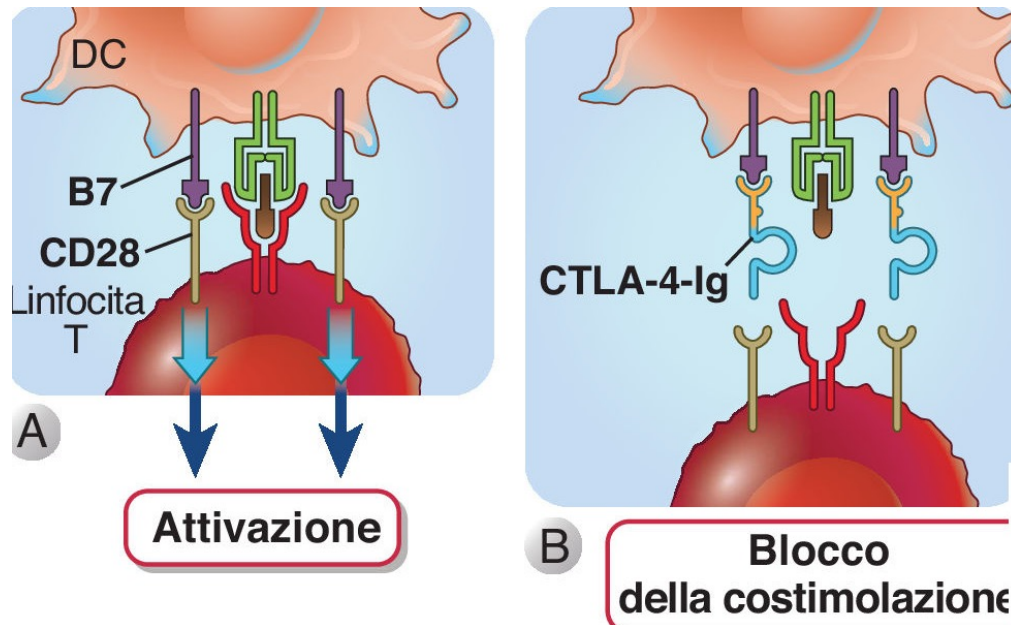


L'OKT3 è stato il primo anticorpo usato in pazienti trapiantati.

Questo agisce depletando i linfociti T o attivando il complemento o attraverso l'opsonizzazione da parte dell'immunoglobuline e rimozione da parte dei fagociti.

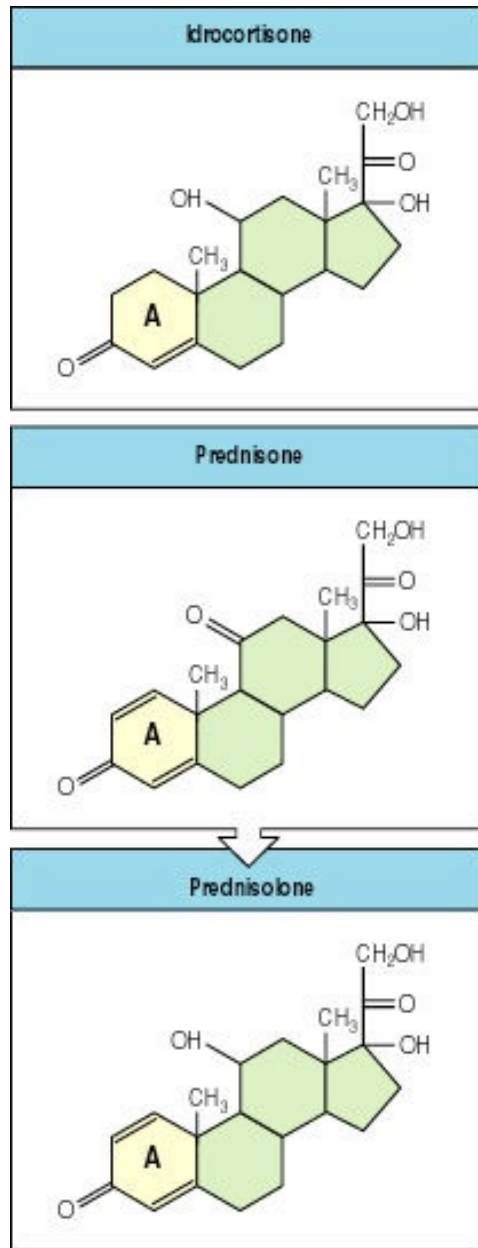
L'anticorpo anti-CD25 riconosce il recettore ad alta affinità per l'IL-2 bloccando la proliferazione dei linfociti T.

## Blocco delle molecole costimolatorie



La proteina ricombinante CTLA4-Ig composta dalla porzione extracellulare di CTLA4 fusa al dominio Fc dell'IgG è utilizzata per il trattamento del rigetto del trapianto. Questa molecola si lega alle molecole B7 sulle APC e previene l'interazione fra CD28 e B7. Il Belatacept è efficace quanto la ciclosporina nel prevenire il rigetto acuto di trapianto.

# Corticosteroidi

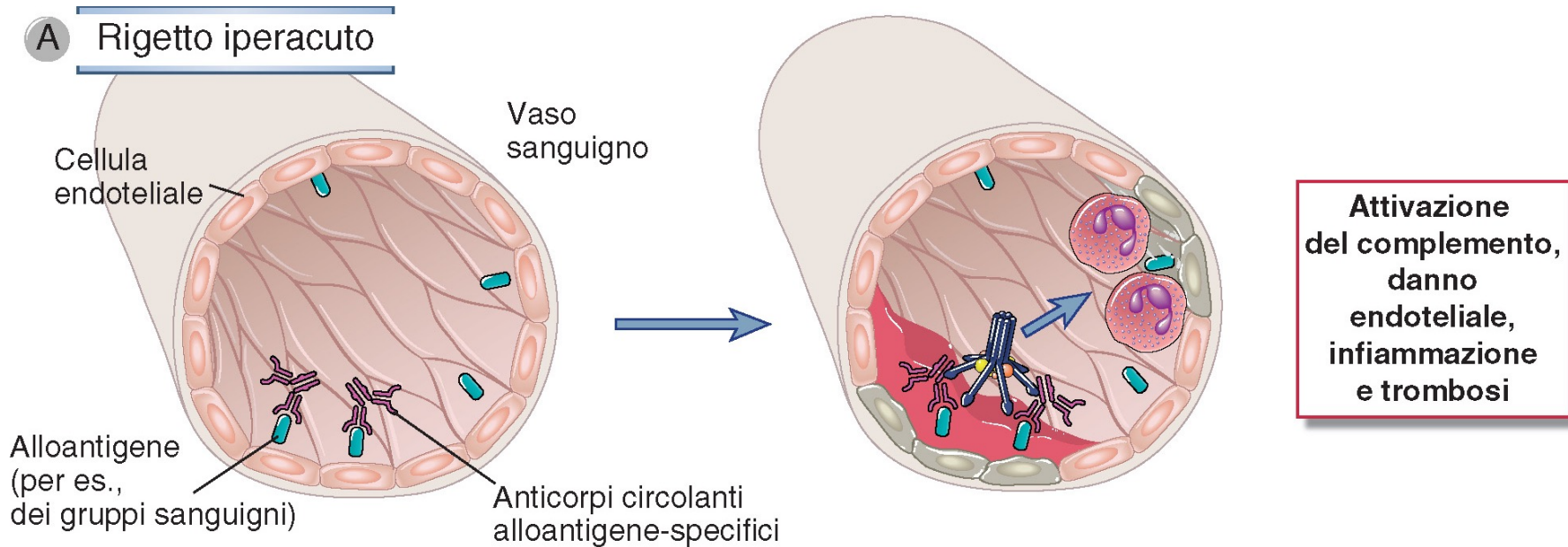


I corticosteroidi sono steroidi con proprietà antiinfiammatorie. I corticosteroidi hanno una azione anti-infiammatoria perché bloccano la sintesi di diverse citochine quali IL-1, TNF- $\alpha$ , e mediatori dell'infiammazione. Agiscono inibendo diversi fattori trascrizionali coinvolti nella espressione delle citochine. Questi sono stati i primi farmaci ad essere utilizzati per l'immunosoppressione nei trapianti.

Terapia corticosteroidea	
Azione	Effetto
↓ IL-1, TNF- $\alpha$ , GM-CSF ↓ IL-3, IL-4, IL-5, IL-8	↓ Infiammazione causata dalle citochine
↓ NOS	↓ NO
↓ Fosfolipasi A <sub>2</sub> ↓ Ciclo-ossigenasi di tipo 2 ↑ Lipocortina-1	↓ Prostaglandine ↓ Leucotrieni
↓ Molecole di adesione	Ridotta migrazione dei leucociti dai vasi
Induzione delle endonucleasi	Induzione dell'apoptosi nei linfociti e negli eosinofili

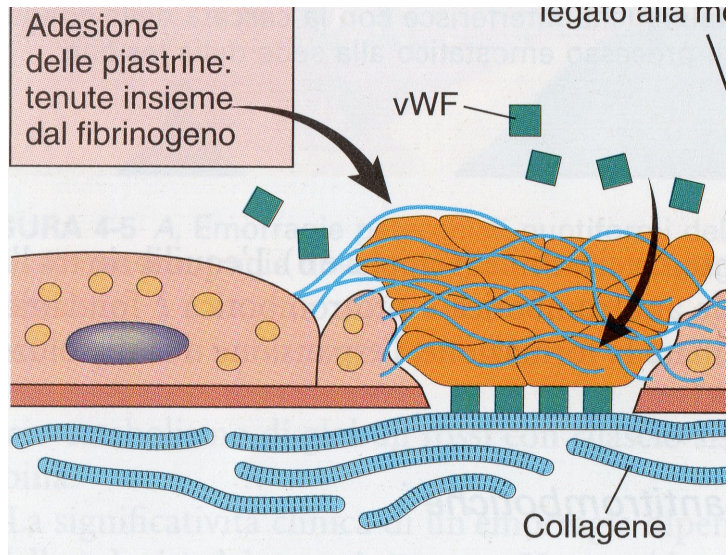
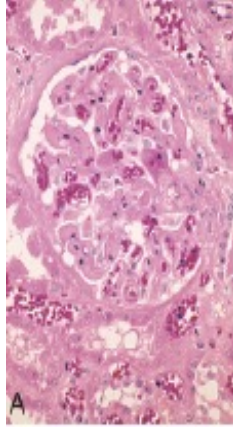
I corticosteroidi agiscono bloccando la sintesi e la secrezione di citochine quali l'IL-1 e il TNF- $\alpha$  da parte dei macrofagi riducendo il processo flogistico. Possono anche bloccare la produzione di prostaglandine di intermedi reattivi dell'ossigeno e di ossido nitrico

# Rigetto iperacuto



Il rigetto iperacuto è mediato dagli anticorpi preesistenti in circolo che riconoscono antigeni espressi dalle cellule endoteliali del donatore. Il rigetto iperacuto si manifesta **nel giro di pochi minuti o di ore** dal momento in cui i vasi del ricevente sono anastomizzati a quelli del donatore. Il rigetto iperacuto è caratterizzato da emorragia e occlusione trombotica della vascolatura del trapianto.

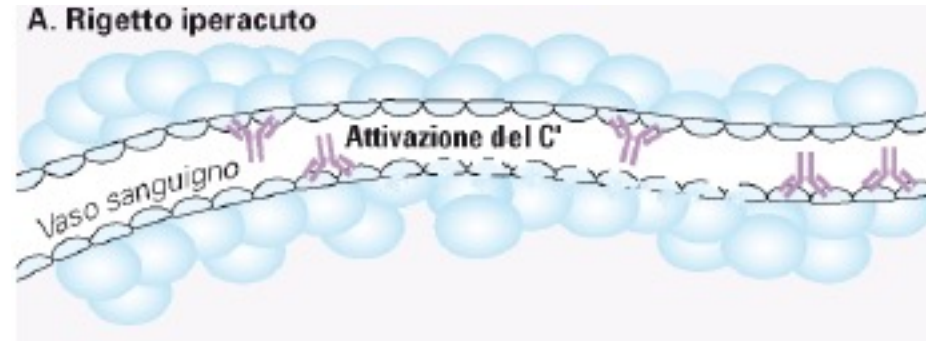




L'attivazione del complemento porta ad un danno dell'endotelio attraverso la formazione del MAC e all'esposizione di proteine della membrana basale subendoteliale che attiva le piastrine.

Le cellule endoteliali producono forme ad alto peso molecolare del fattore di von Willebrand che mediano l'adesione e l'aggregazione piastrinica. Il danno endoteliale porta alla liberazione di particelle lipidiche che avviano la coagulazione.

## Antigeni responsabili del rigetto iperacuto del trapianto



Il rigetto iperacuto può essere causato dall'incompatibilità fra antigeni di gruppo sanguigno ABO fra donatore e ricevente. Le molecole del gruppo sanguigno ABO sono espresse sulle cellule endoteliali. Per evitarlo si selezionano i donatori in modo che esprimano antigeni ABO compatibili con quelli del donatore. Il rigetto iperacuto può essere innescato da anticorpi IgG presenti nel ricevente che riconoscono le molecole MHC allogeniche (politrasfusi, gravidanze).

# Meccanismi immunopatologici del rigetto del trapianto

